

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SÍNTESE E HABILIDADE COORDENANTE DA QUITOSANA  
DITIOCARBAMATO E ANÁLOGOS COM ÍONS METÁLICOS.**

Dissertação submetida à Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do  
grau de “Mestre em Química”.

Eduardo Pinheiro de Souza

Florianópolis  
Santa Catarina - Brasil  
Fevereiro de 2002

**SÍNTESE E HABILIDADE COORDENANTE DA QUITOSANA  
DITIOCARBAMATO E ANÁLOGOS COM ÍONS METÁLICOS.**

**Eduardo Pinheiro de Souza**

Esta dissertação foi julgada e aprovada em sua forma final pelo orientador e  
membros da banca examinadora

Prof. Dr. Valdir Soldi  
Coordenador

Banca examinadora

Prof. Dr. J. J. Eduardo Humeres A.  
Orientador

Prof. Dr. Nito Angelo Debacher  
Depto de Química-UFSC

Profa. Dra. Regina de F. P. Muniz Moreira  
Depto de engenharia -Química-UFSC

Prof. Dr. Valfredo T. de Fávere  
Depto de Química-UFSC

## **AGRADECIMENTOS**

A Cibele.

Aos meus pais e irmãos.

Aos professores Eduardo Humeres e Nito A. Debacher, pela paciência e orientação segura.

Aos professores Marina Ueira, Regina de F. P. M. Moreira, Miguel de Caro e Márcia Mesquita pelos ótimos comentários e incentivos.

Aos servidores Vanilde G. Faria, José Paulo Candido e Jucélia Dario, Ângelo Ruzza, Graça e Jadir pelos serviços prestados e pela amizade.

Aos colegas e amigos dos Laboratórios 214 e 216.

À UFSC e ao departamento pelo uso de suas instalações.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

## ÍNDICE GERAL

<b>RESUMO</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>ABREVIATURAS</b> .....	ix
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	xii
<b>ÍNDICE DE TABELAS</b> .....	xiii
<b>1-JUSTIFICATIVAS E RELEVÂNCIAS</b> .....	1
<b>2-INTRODUÇÃO</b> .....	2
2.1-Adsorventes.....	2
2.2-Quitina.....	2
2.3-Quitosana.....	3
2.4-Ditiocarbamatos.....	8
2.5-Constante de estabilidade e instabilidade.....	10
2.6-Contaminação e Tratamento de Efluentes.....	11
<b>3-OBJETIVO GERAL</b> .....	12
3.1-Objetivos específicos.....	12
<b>4-PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	12
4.1-Materiais.....	12
4.2-Métodos.....	13
<b>5-RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	16
<b>6-CONCLUSÃO</b> .....	35
<b>7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	36

## RESUMO

Quitosana ditiocarbamato de potássio (ChitDTCK) foi sintetizado e caracterizado por análise elementar e  $^{13}\text{C}$  RMN em estado sólido. O grau de substituição GS (numero de substituíntes por 100 unidades de 2-amino-2-deoxyglucopiranoose) e molalidades dos grupos foram calculados para os substituíntes acetilamino, amino e ditiocarbamato na quitina, quitosana e ChitDTCK. Um estudo comparativo da retenção e recuperação de ions Cu(II), Co(II) e Ni(II) foi realizado com a quitina, quitosana e ChitDTCK a 30 °C, pH 6,0 (0,1M succinato). Para tal efeito foram calculadas as constantes de estabilidade ( $K_X$ ), para o equilíbrio heterogêneo,



onde X representa os ligantes acetilamino, amino e ditiocarbamato e  $\text{M(II)} = \text{Cu(II)}$ , Co(II) e Ni(II). Também foram calculadas as constantes de instabilidade ( $K_X^{-1}$ ), pelo equilíbrio inverso. Assumiu-se que os complexos apresentam a razão 1:1 metal-ligante com respeito a cada grupo. Para Cu(II) os valores das constantes de estabilidade  $K_X$  foram 44,5 (acetilamino),  $9,4 \times 10^3$  (amino), e  $3,5 \times 10^3$  (ditiocarbamato). As constantes de instabilidade  $K_X^{-1}$  foram  $5,0 \times 10^{-3}$  (acetilamino) e  $1,90 \times 10^{-5}$  (amino). Para Co(II) as constantes foram  $K_X$  0,69 (acetilamino) e  $1,5 \times 10^3$

(amino);  $K_X^{-1}$   $1,80 \times 10^{-2}$  (acetilamino) e  $2,5 \times 10^{-5}$  (amino). Para Ni(II) os valores foram  $K_X$  0,7 (acetilamino) e  $1,1 \times 10^4$  (amino);  $K_X^{-1}$   $1,2 \times 10^2$  (acetilamino) e  $4,1 \times 10^{-6}$  (amino). É proposto que na presença de succinato a principal espécie presente em solução de íons aqua Cu(II) deve ser o complexo sem carga Cu(II)-succinato, que impede que os grupos ligantes (acetilamino, amino, DTC) formem complexos maiores que 1:1 e pode também explicar que a constante de estabilidade para o DTC fosse menor que o do grupo amino. O método permite a caracterização da habilidade quelante de cada grupo na matriz da quitosana com respeito a íons metálicos.

## ABSTRACT

Potassium chitosan dithiocarbamate (ChitDTC) was synthesized and characterized by elemental analysis and solid state  $^{13}\text{C}$  NMR. The degree of substitution DS (number of substituents per 100 2-amino-2-deoxyglucopyranoside units) and molalities of the groups were calculated for acetylamino, amino, and dithiocarbamate substituents in chitin, chitosan and ChitDTC. A comparative study of the retention and recovery of Cu(II), Co(II) e Ni(II) was performed with chitin, chitosan, and ChitDTC at 30 °C, pH 6.0 (0.1 M succinate). The stability constants  $K_X$  for the heterogenous equilibrium



were calculated, where X represents the ligands acetylamino, amino, and dithiocarbamate, and M(II) = Cu(II), Co(II) e Ni(II). The instability constants  $K_X^{-1}$  were also calculated from the reverse equilibrium. It was assumed that the complexes of M(II) ions were largely in a 1:1 ratio with respect to each group on the chitosan matrix. For Cu(II) the values of the stability constants  $K_X$  were 44,5 (acetylamino),  $9,4 \times 10^3$  (amino), e  $3,5 \times 10^3$  (dithiocarbamate). The instability constants  $K_X^{-1}$  were  $5,0 \times 10^{-3}$  (acetylamino) and  $1,9 \times 10^{-5}$  (amino). For Co(II) the constants were  $K_X$  0,69 (acetylamino) and  $1,5 \times 10^3$  (amino);  $K_X^{-1}$   $1,8 \times 10^{-2}$  (acetylamino) and  $2,5 \times 10^{-5}$  (amino). For Ni(II) the values were  $K_X$  0,7

(acetilamino); and  $1,1 \times 10^4$  (amino);  $K_X^{-1}$   $1,2 \times 10^{-2}$  (acetilamino) e  $4,1 \times 10^{-6}$  (amino).

It is proposed that in the presence of succinate the main species of aqua Cu(II) ion present in solution must be the uncharged Cu(II)-succinate complex that prevents the acetilamino, amino and DTC groups to form complexes higher than 1:1 and also may explain that the stability constant for DTC was lower than for amino group. The method allows the characterization of the chelating ability of each group in the chitosan matrix with respect to metal ions.



## ABREVIATURAS

**ChitNH<sub>2</sub>**-(quitosana) (1→4)-β-D do 2-amino-2-deoxi-D-glicose

**ChitCOCH<sub>3</sub>**-(quitina) (1→4)-β-D do 2-acetamido-2-deoxi-D-glicose

**ChitDTCK**-sal de quitosana ditiocarbamato de potássio

**NH<sub>2</sub>**-grupamentos amino

**NHAc** grupamentos acetilamino

**NHCS<sub>2</sub>K** grupamentos ditiocarbâmico

**K<sub>x</sub>**-Constante de estabilidade, onde x representa os grupos acetilamino(COCH<sub>3</sub>), amino(NH<sub>2</sub>) e ditiocarbâmico(CS<sub>2</sub><sup>-</sup>)

**K<sub>x</sub><sup>-1</sup>** - Constante de instabilidade, onde x representa os grupos acetilamino(COCH<sub>3</sub>), amino(NH<sub>2</sub>) e ditiocarbâmico(CS<sub>2</sub><sup>-</sup>)

**K<sub>s</sub>** -Produto de solubilidade

**RMN <sup>13</sup>C**-Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13.

**CPMAS**-polarização cruzada do angulo mágico

**TOSS**-supressão total de bandas laterais

**GS**-Grau de Substituição

**GS<sub>NH2</sub>** -Grau de Substituição dos grupos amino

**GS<sub>NHAc</sub>** -Grau de Substituição dos grupos acetilamino

**GS<sub>CS2</sub>**-Grau de Substituição dos grupos ditiocarbâmicos

**GS<sub>RMN</sub>** -Grau de Substituição determinado por RMN <sup>13</sup>C

**GS %s**-Grau de Substituição determinado por análise elementar de enxofre

**AA**-Espectrometria de absorção atômica

**Ppm**-Parte por milhão

**IR**-Espectroscopia de infravermelho

$m_x^o$ - Molalidade inicial do grupo no sólido

$m_{NHAc}^o$  -Molalidades dos grupos acetilamino

$m_{NH_2}^o$  - Molalidade dos grupos amino

$m_{DTC}^o$  - Molalidade dos grupos ditiocarbâmicos

$(m_M)^{sld}$  - Molalidade em equilíbrio do íon M(II) no sólido

$(m_M)^{sln}$  -Molalidade em equilíbrio do íon M(II) na solução

$(m_M)_x^{sld}$  -Molalidade do M(II) quelados com os grupos NHAc

$(m_M)_y^{sld}$  -Molalidade do M(II) quelados com os grupos aminos livres (não protonados)

$(m_M)_z^{sld}$  - Molalidade do M(II) quelados com os grupos grupo ditiocarbamato

$(m_M)_o^{sln}$  -Molalidade inicial da solução do íon M(II)

$(m_M)^{sln}$  -Molalidade em equilíbrio do íon M(II) na solução

**MM**-Massa Molar do aneis de quitina, quitosana e quitosana ditiocarbamato

**k e k<sub>s</sub>** -Constantes de velocidade

**t<sub>1/2</sub>**-Tempo de meia vida

**M(II) ou M**-É a representação dos íons Cu(II), Co(II) e Ni(II)

***n*** -Representa o coeficiente estequiométrico da reação, representando o número de grupamentos amino ligado a um metal M(II)

***x***- átomos-grama dos metais M(II) quelados com os grupos NHAc

***y***- átomos-grama dos metais M(II) quelados com os grupos NH<sub>2</sub>

***z***- átomos-grama dos metais M(II) quelados com os grupos NHCS<sub>2</sub><sup>-</sup>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-Espectro de RMN do  $^{13}\text{C}$ , em estado sólido, 75 MHz, CP/MAS, da amostra ChitDTCK com  $\text{GS}_{\text{RMN}}=21,6$ ..... 18

Figura 2-Variação da concentração em função do tempo na retenção de íons  $\text{Cu(II)}$  por 200 mg de quitina em 100 ml de 1,004 mM  $\text{CuSO}_4$ , tamponada com 0,1 M succinato a pH 6,0, a 30° C..... 25

Figura 3-Variação da concentração em função do tempo na retenção de íons  $\text{Cu(II)}$  por 200,0 mg de quitosana em 100,0 ml de 1,004 mM  $\text{CuSO}_4$ , tamponada com 0,1 M succinato a pH 6.0, a 30° C..... 25

Figura 4-Variação da concentração em função do tempo na retenção de íons  $\text{Co(II)}$  por 500,0 mg de quitosana em 50,0 ml de 19,87 mM  $\text{Co(NO)}_3$ , tamponado com 0,1 M succinato a pH 6.0, a 30° C..... 26

Figura 5-Variação da concentração em função do tempo na retenção de íons  $\text{Ni(II)}$  por quitosana. 500,0 mg de quitosana em 50,0 ml de 18,11 mM  $\text{Ni(NO)}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , tamponado com succinato a pH 6.0, a 30° C..... 26

## Esquemas

Esquema 1-..... 4

Esquema 2-..... 7

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1-RMN de $^{13}\text{C}$ CP/MAS no estado sólido de quitina, quitosana e quitosana ditiocarbamato de amônia e potássio.....	19
Tabela 2-Grau de substituição de grupos na quitosana ditiocarbamato....	21
Tabela 3-Grau de substituição e molalidades dos grupos derivados da quitina e seus derivados.....	22
Tabela 4- Retenção e recuperação de íons metálicos por derivados da quitosana a 30° C.....	28
Tabela 5-Constantes de estabilidade e instabilidade para íons metálicos com alguns grupos X contidos em derivados da quitosana ( $\text{X} = \text{NH}_2$ ) a 30° C.....	32

## 1. JUSTIFICATIVAS E RELEVÂNCIAS DO TRABALHO

Este trabalho tem como finalidade o desenvolvimento de um método para calcular separadamente as constantes de estabilidade e instabilidade, de complexos formados por íons metálicos  $M(II)$  ( $Cu(II)$ ,  $Co(II)$  e  $Ni(II)$ ) com os grupos acetamido, amino e ditiocarbamato presentes em polímeros como quitina (grupos acetamido), quitosana (amino e acetamido) e quitosana ditiocarbamato (ditiocarbamato, amino e acetamido).

Levando em conta a enorme importância das constantes de estabilidade de complexação na química analítica, esta forma de abordagem do problema abre o caminho para o cálculo das constantes num sistema similar que apresente uma mistura de grupos numa mesma matriz polimérica.

A relação da quitina e seus derivados, com o meio ambiente são um aspecto importante do trabalho, porque o tratamento adequado dos rejeitos industriais é um importante meio de contribuir na preservação do meio ambiente. As formas de tratamentos de efluentes são diversas (precipitação química, filtração por membrana, troca iônica, adsorção por carvão, coprecipitação, etc.). Cada técnica necessita de instrumentos e metodologias. Por exemplo, a adsorção e a troca iônica necessitam de adsorventes e trocadores iônicos que devem ser otimizados. Daí a importância de estudar materiais que possam ser utilizados para reter espécies químicas em solução, por exemplo, íons de metais pesados e pigmentos.

A escolha de derivados da quitina como materiais adsorventes está baseada na facilidade da obtenção e na abundância desse biopolímero na natureza, podendo isso justificar a escolha da quitina no presente trabalho, pois ela é o segundo biopolímero natural mais abundante na natureza. Outro ponto muito importante é a capacidade da

quitina, quitosana e alguns derivados, de reter íons metálicos por complexação e de adsorver compostos orgânicos.

## 2. INTRODUÇÃO

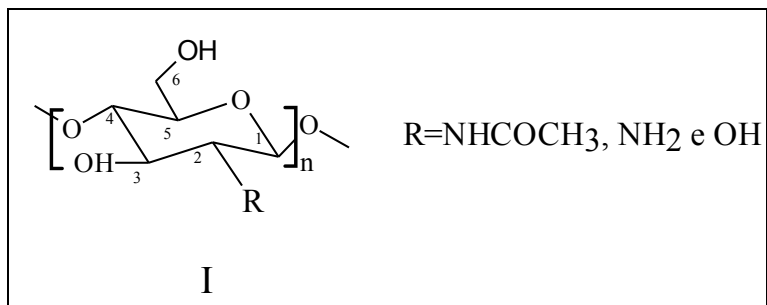
### 2.1. Adsorventes

Os adsorventes são materiais utilizados para adsorver metais e outras espécies químicas em meios líquidos ou gasosos. Os diversos adsorventes são originados de diferentes fontes, essas podem ser naturais ou não. Apresentam diferentes propriedades físicas e químicas, nas quais influenciam diretamente na especificidade e na capacidade de adsorção. Os parâmetros especificidade e capacidade somada aos custos das obtenções dos adsorventes são pontos essenciais para sua escolha. Conseqüentemente muitos adsorventes de baixo custo têm sido intensamente investigados.<sup>1</sup>

Geralmente para ser considerado de baixo custo, o adsorvente requer poucos procedimentos, deve ser abundante na natureza ou então ser rejeito industrial. Alguns exemplos de adsorventes de baixo custo são lignina, biomassa morta, quitina, quitosana, algas, xantatos, argila, cinzas, turfa de musgo, musgo, algodão, madeira, cascas de arroz e de coco, zeólitas.

### 2.2. Quitina

A quitina (I,  $R=\text{NHCOCH}_3$ ) é um polímero, (1→4)- $\beta$ -D 2-acetamido-2-deoxi-D-glicose, cuja estrutura é muito semelhante à da quitosana (I,  $R= \text{NH}_2$ ) e da celulose (I,  $R=\text{OH}$ ). Estes polissacarídeos são diferenciados somente pelos grupos ligados posição C-2 do anel: acetamido na quitina, amino na quitosana e hidroxila na celulose.





Apresenta-se como um dos principais constituintes do exoesqueleto de insetos e crustáceos, também é proveniente de fungos.<sup>2</sup>

A produção de quitina proveniente das cascas e carapaças de crustáceos é associada com a indústria alimentícia e pesqueira, e nessas indústrias, o camarão é o crustáceo mais utilizado para a obtenção da quitina. Esse processo de obtenção da quitina, proveniente de cascas de crustáceos, envolve uma série de tratamentos às cascas desses crustáceos, como a remoção de proteína e a dissolução de carbonato de cálcio.<sup>2</sup>

A quitina apresenta considerável grau de dureza, é inelástica, hidrofóbica, insolúvel em água, porém é solúvel em alguns solventes orgânicos. Também é solúvel em hexafluoro-iso-propano, hexafluoroacetona, cloroalcoois em soluções aquosas de ácidos minerais<sup>3</sup> e em dimetil acetamida contendo 5,0% de cloreto de lítio.

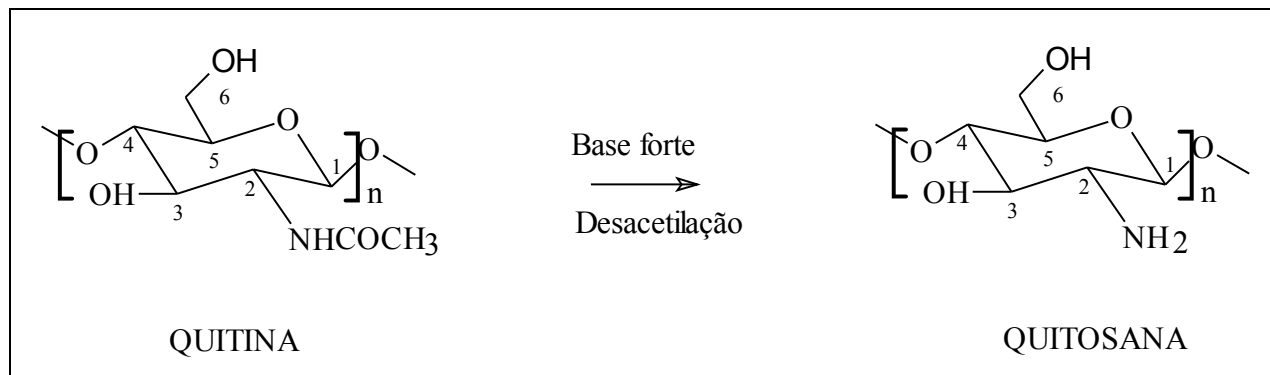
É um polissacarídeo nitrogenado que quando não aproveitado, pode até contribuir para o aumento da poluição das áreas costeiras, devido a sua baixa biodegradabilidade. Uma das formas de degradação deste polímero é a ação enzimática da quitinase.<sup>2</sup> Uma das principais transformações da quitina é realizada em meio básico produzindo a quitosana por desacetilação, (Esquema 1). A hidrólise da quitina em condições drasticamente ácidas pode produzir D-glucosamina pura.

A quitina pode ser utilizada para a remoção de íons de metais pesados e de outras espécies químicas, como corantes. Entretanto modificações realizadas na sua estrutura podem melhorar consideravelmente essa propriedade.

### **2.3. Quitosana**

O biopolímero quitosana ( II, R = NH<sub>2</sub>), (1→4)-β-D 2-amino-2-deoxi-D-glicose, é obtido da desacetilação da quitina. A quitosana é solúvel em ácidos diluídos, como ácido acético e ácido fórmico. É considerada como o derivado não tóxico da quitina, apresentando muitas utilidades devido a sua hidrofilicidade,

biocompatibilidade, <sup>2</sup> biodegradabilidade, propriedades anti-bacteriais e afinidade por proteínas. <sup>4</sup>



(II)

### Esquema 1

O grau de acetilação(GA) é uma importante característica da quitosana, esta propriedade apresenta uma ligação direta com a solubilidade e com o  $pK_a$  do polissacarídeo, o GA é a relação quantitativa entre grupos acetila e amino que pode ser descrita como a razão entre as unidades 2-acetamido-2-deoxi-D-glicose e 2-amino-2-deoxi-D-glicose numa amostra de quitosana ou quitina.<sup>2</sup>

Os grupos amino deste biopolímero oferecem a possibilidade de obter vários derivados como ditiocarbamatos, isotiocianatos e tionocarbamatos,<sup>5</sup> como mostra o Esquema 2.

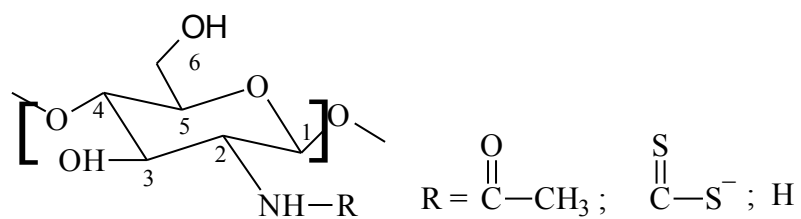
Recentemente, derivados de outros polímeros também providos com grupamentos amino têm sido estudados. Por exemplo, grupos tióis ou ditiocarbamatos são introduzidos em polímeros preparados por policondensação de polietilenamina e cloreto cianúrico em presença de tiouréia e em aminoceluloses tratados com dissulfeto de carbono.<sup>6</sup>

A considerável habilidade da quitosana de reter íons metálicos esta relacionada com a presença de grupos amino e com a sua insolubilidade em soluções aquosas a pH 6.0. Além do mais, essa habilidade pode ser otimizada através de modificações na sua estrutura, principalmente nos grupamentos amino.<sup>6</sup>

Ainda com relação à retenção de íons metálicos, existem trabalhos realizados com a quitosana e íons Hg(II) e Cr(III) onde foi concluído que alguns fatores como o tempo de contato do polissacarídeo com íons Hg(II), tamanho dos grânulos do polissacarídeo, concentração inicial de mercúrio e quantidade de quitosana<sup>7</sup> influenciam diretamente a eficiência da quitosana para reter Hg(II). Outros estudos envolvendo a remoção de Cr(III), determinaram que a capacidade de remover Cr(III) aumenta com a diminuição do tamanho das partículas, e que as cinéticas da remoção são de pseudo-primeira ordem.<sup>2</sup>

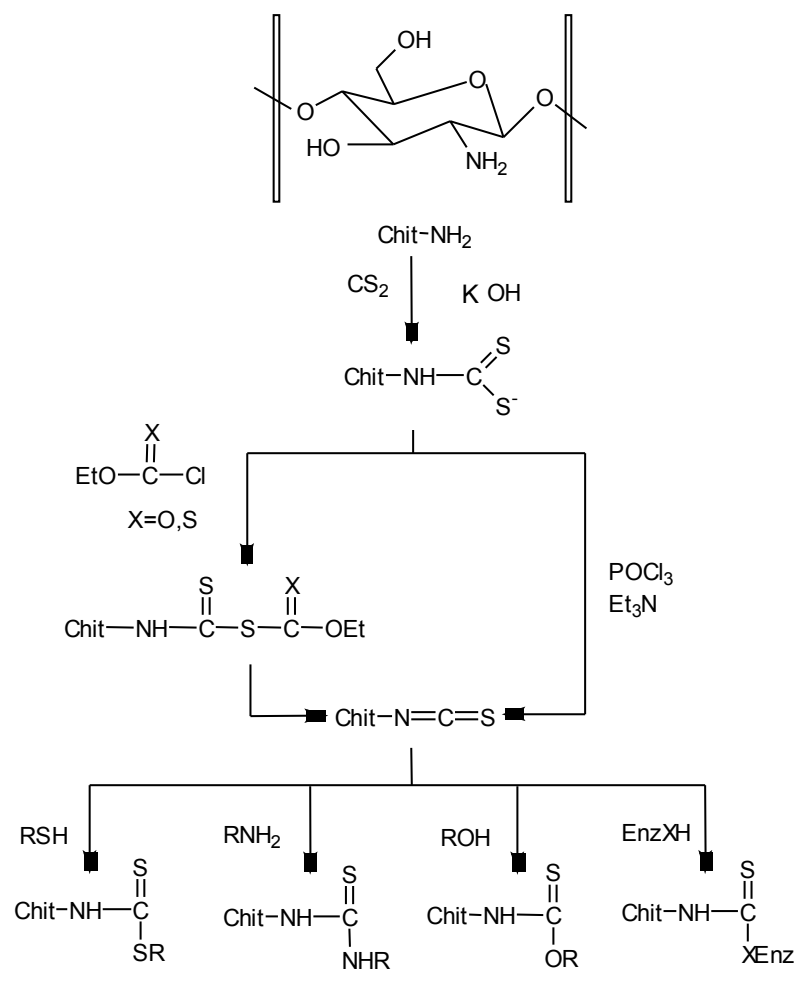
Um importante fator que não é devidamente abordado nos estudos da quitosana é o controle do pH durante a remoção de íons metálicos, pigmentos e outros compostos. Considerando que o  $pK_a$  da quitosana seja 6,5,<sup>2</sup> quando o pH for igual ao valor do  $pK_a$ , a quitosana perde sua eficiência de reter íons metálicos, porque cerca de 70% dos grupos amino estão protonados, impossibilitando a retenção das espécies metálicas. Não apenas com a quitosana, mas também com a quitosana ditiocarbamato, o cuidado com o pH deve ser tomado, pois os ditiocarbamatos decompõem-se em pH ácido.<sup>8</sup>

A caracterização das estruturas desses polissacarídeos pode ser realizada por RMN  $^{13}C$  em estado sólido. Por exemplo, a modificação estrutural da quitina em ditiocarbamato de quitosana (ChitDTCK) (II), pode ser diferenciada pelo grupo ligado ao grupo amino da unidade de 2-amino-2-deoxi-anidroglicopiranosose, porque o grupo acetila ( $COCH_3$ ) (II) apresenta sinais a 174,7 (CO) e 24,3 ( $CH_3$ ) ppm<sup>9</sup> e o grupo ditiocarbamato a 214,8<sup>10</sup> ppm.



## II

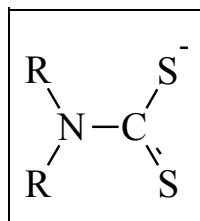
O Esquema 2, mostra algumas rotas de sínteses para modificar a estrutura da quitosana, com grupos sulfurados como ditiocarbamatos, isotiocianatos tionocarbamatos e tiouréias.<sup>5</sup>



## **Esquema 2**

## 2.4. Ditiocarbamatos

Os ditiocarbamatos (III) são os produtos da reação entre uma amina primária ou secundária com dissulfeto de carbono em meio básico.



### III

A formação e a estabilidade desses compostos organo sulfurados depende principalmente do pH da solução. Para a formação o pH do meio reacional deve ser igual ou maior do que o  $pK_a$  da amina formadora, para que haja grupos amino com par de elétrons livres. Com relação a estabilidade, o pH da solução do ditiocarbamato deve ser básico.<sup>8</sup>

Os ditiocarbamatos são utilizados intensivamente na agricultura, como pesticidas, inseticidas e fungicidas.<sup>11</sup>

O tiuran tem sido utilizado em lavouras como fungicida desde 1934. Outros ditiocarbamatos também tem sido usado para esse fim, como sais do N-metil e N, N-dimetil ditiocarbamato. Sais do etileno bis ditiocarbamato constituem uma importante serie de fungicidas conhecidos como naban (sal de Na), zineb (sal de Zn) e maneb(sal de Mn).<sup>12</sup>

Sais de metais pesados de ditiocarbamato são utilizados na química analítica, devido a sua insolubilidade em água<sup>10, 13</sup>, por exemplo, para detectar e quantificar traços de cobre<sup>13,14</sup> nos mais variados tipos de materiais.

O ditiocarbamato derivado da quitosana é um bom exemplo do uso deste grupo para reter íons metálicos,<sup>6</sup> possivelmente através de troca iônica, especialmente com Cu(II).<sup>15, 16</sup>

Embora extensamente estudados ainda há muito interesse em conhecer suas propriedades físico-químicas.<sup>8</sup>

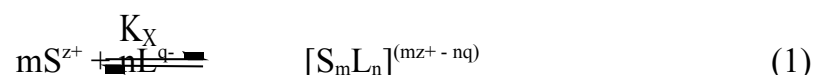
Uma propriedade intensamente discutida é a questão da seletividade para separar metais apresentados pelos ditiocarbamato. Estudos referentes à seletividade destes grupos ligados à superfície da sílica gel (sílica gel ditiocarbamato, Si-DTC), apresentaram resultados divergentes. Enquanto um destes trabalhos apresentou uma alta seletividade<sup>17</sup> de Co(II) pela (Si-DTC), outro grupo, utilizando as mesmas condições mostrou uma baixa seletividade do ligante ao íon metálico Co(II).<sup>18</sup>

Com respeito à habilidade dos ditiocarbamato como quelantes, eles atuam como ligantes monodentados ou bidentados. A diferença da forma de complexação pode ser determinada com o auxílio da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. Ou seja, em qualquer espectrômetro de infravermelho pode-se observar os estiramentos das ligações C—S em  $965\text{--}940\text{ cm}^{-1}$ , banda característica de ditiocarbamatos, mas a diferenciação entre a forma bidentada e monodentada só é possível com espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. Para bidentados a banda apresenta-se como um dublete, enquanto que para monodentados a mesma banda apresenta-se na forma singlete.

É importante ressaltar que apenas a espectroscopia de infravermelho não é totalmente eficaz para a caracterização de ditiocarbamato, pois a banda em  $1480\text{ cm}^{-1}$  do grupo N-C=S,<sup>6</sup> pode corresponder não apenas ao grupo ditiocarbamato, mas também a tiouréia,<sup>19</sup>, ou seja, não é possível diferenciar ditiocarbamato e tiouréia.

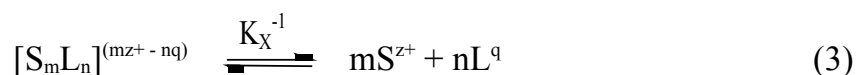
## 2.5 Constante de estabilidade e constante de instabilidade

O equilíbrio 1, mostra a formação do complexo  $S_mL_n$  a partir do substrato S e do ligante L, com uma constante de equilíbrio representada pela equação 2, onde  $m$  e  $n$  representam os coeficientes estequiométricos e  $z^+$  e  $q^-$  as cargas do cátion e ânion respectivamente.



$$K_X = \frac{[S_mL_n]^{(mz^+ - nq)}}{[S^{z^+}]^m [L^{q^-}]^n} \quad (2)$$

A constante  $K_x$ , de formação do complexo  $S_mL_n$ , representa as constantes denominadas de ligação, estabilidade<sup>20</sup>, formação ou associação. O valor recíproco desta equação define as constantes de instabilidade<sup>20</sup> ou dissociação, segundo o equilíbrio 3 e equação 4.



$$K_X^{-1} = \frac{[S^{z^+}]^m [L^{q^-}]^n}{[S_mL_n]^{(mz^+ - nq)}} \quad (4)$$

Uma importantíssima consideração a respeito dos valores das constantes de estabilidade é seu uso na química analítica, proporcionando informações sobre as concentrações em equilíbrio dos complexos formados por um metal. Este conhecimento é muito valioso na investigação da complexometria e dos diversos procedimentos de separação analítica, como a extração por solvente e a troca iônica.



## **2.6 Contaminação e tratamento de efluentes**

A poluição de bacias hidrográficas, rios, baías, solos, entre outros, pode ser causada pelo acúmulo de metais pesados, pigmentos e diversas outras substâncias nocivas ao meio ambiente. Esse problema geralmente é causado por indústrias que utilizam esses compostos na fabricação de seus produtos e não utilizam um sistema adequado de tratamento de resíduos tóxicos e poluentes para seus efluentes, onde parte dos compostos que não foram usados é descartada na natureza sem tratamento ou na melhor das hipóteses, com um tratamento pouco eficiente.

Alguns metais pesados como cádmio (Cd), cromo (Cr), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg), tendem a acumular-se em organismo vivos, causando serias doenças.<sup>1</sup> Alguns dos métodos de tratamento de meios contaminados com metais pesados incluem precipitação química, filtração por membranas, troca iônica, adsorção e coprecipitação/adsorção. Muitas vezes pelo fato dos adsorventes serem materiais naturais, rejeitos da indústria, agricultura e da pesca, podem apresentar-se como alternativas de baixo custo, além de apresentarem enorme eficiência nos processos de descontaminações

O custo é um importante parâmetro para comparar os materiais úteis para descontaminações. Entretanto informações sobre o custo são raramente conhecidas, e as despesas desses adsorventes individuais variam dependendo do processo requerido e local avaliado. Em geral, um sorbente é considerado “de baixo custo” se requer pequenos processos, é abundante na natureza, ou é um subproduto ou rejeito da indústria. Na maioria dos casos as indústrias não usam um sistema adequado devido ao alto custo desses tratamentos, principalmente em países subdesenvolvidos. Neste aspecto a possibilidade do uso de derivados da quitina na eliminação de metais pesados é importante, pois este é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, depois da celulose.

### 3. OBJETIVO GERAL

Estudar as propriedades quelantes dos polissacarídeos quitina, quitosana e quitosana ditiocarbamato.

#### 3.1. Objetivos Específicos

- a) Sintetizar e caracterizar quitosana ditiocarbamato de potássio (ChitDTCK).
- b) Medir a capacidade de retenção e recuperação de íons Co(II), Ni(II) e Cu(II) pela quitina, quitosana e quitosana ditiocarbamato.
- c) Desenvolver um método para determinar separadamente as constantes de estabilidades e instabilidade dos grupos  $\text{COCH}_3$ ,  $\text{NH}_2$  e  $\text{CS}_2^-$ , inseridos na cadeia polimérica com diversos íons metálicos.

### 4. PARTE EXPERIMENTAL

#### 4.1. Materiais

##### *Reagentes*

A quitina, obtida de cascas de camarão, e quitosana eram da Aldrich. Os reagentes eram de qualidade analítica e foram usados sem purificação prévia: As soluções aquosas foram preparadas usando água destilada e deoxigenada  $\text{CS}_2$  (Vetec), acetona (Nuclear), etanol (Nuclear), éter etílico (Vetec). Para a preparação dos tampões utilizou-se, KOH (Nuclear),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  e  $\text{KHCO}_3$  (Grupo Química),  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (Grupo Química) e  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (Reagem), ácido succínico (Cibra). Nos testes de capacidade de retenção de íons metálicos foram utilizados  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Vetec),  $\text{Co}(\text{NO})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Vetec),  $\text{Ni}(\text{NO})_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Merck)

##### *Equipamentos*

As leituras de absorbância para determinação da concentração dos íons metálicos nos testes de retenção e regeneração de íons metálicos foram realizadas num espectrômetro de absorção atômica Hitachi, modelo Z8230. Utilizou-se um analisador de enxofre LECO, modelo SC132 para determinar a percentagem de

enxofre nas amostras de ChitDTCK sintetizadas. A caracterização por RMN de  $^{13}\text{C}$  em estado sólido da quitina, quitosana e quitosana ditiocarbamato dos compostos sintetizados foi realizada num espectrômetro Bruker MSL-300.

## 4.2. Métodos

Uma massa de 5,0 g de quitosana foi agregada a 210,0 mL de uma solução 0,1 M de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  e  $\text{KHCO}_3$  ajustada a pH 10. A suspensão foi deixada sob agitação magnética durante 1 hora, em seguida adicionou-se uma solução de 3,4 mL de  $\text{CS}_2$  em 15,0 mL de acetona, deixando reagir por 9 horas. O sólido filtrado foi tratado com uma solução tampão de acetato pH 4,0 (0,1 M) e lavado com água, etanol e éter etílico, secando-se finalmente sobre  $\text{P}_2\text{O}_5$  a vácuo em pistola de secagem de Abderhalden, durante 6 h à temperatura de ebulição da acetona (56 °C).

### *Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C}$ em Estado Sólido.*

As amostras de quitosana e ChitDTCK, foram analisadas por RMN de  $^{13}\text{C}$  ( 75,5 MHz) com polarização cruzada(CP) do angulo mágico(MAS) e supressão total de bandas laterais (TOSS).

### *Grau de Substituição(GS)*

O GS indica o número de grupos substituintes por cada 100 unidades de anéis de anidroglicopiranosos.<sup>21</sup>

Foi calculado pelo espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido da quitosana e ChitDTCK (Figura 4) usando como padrão interno o sinal de C-1, que não pode ser substituído. O GS da amostra de ChitDTCK, também foi calculado pela análise elementar do conteúdo de enxofre realizada no analisador de enxofre LECO, e o GS foi codificado de GS<sub>%S</sub>.

Os graus de substituição da quitosana com respeito aos grupos amino e acetila, foram determinados do espectro de RMN, calculando-se primeiro o GS<sub>NHAc</sub> e por diferença o GS<sub>NH2</sub>. Para a quitosana ditiocarbamato (ChitDTCK), calculou-se os

graus de substituição dos três grupos,  $\text{COCH}_3$ ,  $\text{NH}_2$  e  $\text{CS}_2^-$ , considerando que a razão  $\text{COCH}_3/\text{NH}_2$  é constante.

#### *Preparação das soluções estoque*

Para os testes de retenção foram preparadas soluções estoques de  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , e  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , tampão succinato e KCl. Para o succinato preparou-se 2,0 L de solução aproximadamente 0,1 M utilizando uma massa de 23,620 g de ácido succínico, e o pH 6,0 da solução foi ajustado com KOH. Para o Co(II) e Ni(II) pesou-se exatamente massas de 2,910 g e 2,908 g dos sais respectivamente, estas massas foram dissolvidas com o tampão succinato em dois balões volumétricos de 500,0 mL resultando em duas soluções 19,87 mM e 18,11 mM, respectivamente. Para o Cu(II) foram pesadas analiticamente massas de 0,125 g e 0,123 g do sal que foram dissolvidas em balões volumétricos de 500 mL com tampão succinato, resultando em concentrações de 1,004 mM e 0,983 mM. A solução de KCl obteve-se pesando 119,010 g do sal e dissolvendo em 500,0 mL do tampão succinato, resultando numa concentração de 3,2 M.

### *Retenção de Íons Co(II), Ni(II) e Cu(II) por ChitDTCK, Quitosana e Quitina.*

As experiências foram realizadas em Erlenmeyers de 250 mL, onde foram colocadas as soluções de íons metálicos e os polímeros (quitina, quitosana e ChitDTCK). Essas suspensões foram deixadas a 30 °C durante 1 h sob agitação magnética, nesse intervalo de tempo coletou-se alíquotas de 100,0 µL a vários tempos com uma seringa de 100,0 µL, as alíquotas foram colocadas em balões volumétricos de 10,0 mL, completando-se o volume com água destilada acidulada com 1,0% de ácido nítrico. As concentrações de íons metálicos das soluções foram analisadas por espectrometria de absorção atômica. Com estes resultados pode-se traçar curvas de concentração (ppm) em função do tempo e por linearização determinar as quantidades de íons de metais em equilíbrio e retidos pelos polímeros. Nos momentos das coletas de 100,0 µL as agitações eram interrompidas temporariamente.

Para as experiências com Co(II) e Ni(II) foram agregados 500,0 mg de cada polímero (quitina, quitosana) a 50,0 mL de soluções 19,87 mM e 18,11 mM dos íons metálicos respectivamente, tamponadas com ácido succínico 0,1 M a pH 6,0. Para os íons Cu(II) foram agregados 200,0 mg de cada polímero à 100,0 mL de uma solução de 1,004 mM, tamponada com ácido succínico (0,1 M) a pH 6,0.

Apenas para íons Cu(II), também foram realizadas experiências onde 100,0 mg de cada polímero (quitina, quitosana e quitosana ditiocarbamato) foram adicionadas a 50,0 mL de uma solução de 0,983 mM de Cu(II). Além disso mais outra experiência foi realizada e 100 mg de cada sólido foi adicionada a 10 mL da solução de 0,956 mM de Cu(II). Todas soluções de Cu(II) foram tamponadas com ácido succínico 0,1 M a pH 6,0 e as suspensões foram agitadas durante 1 h a 30 °C. As suspensões foram centrifugadas durante 30 min e os sobrenadantes coletados com seringas de vidro de 10,0 mL. As amostras coletadas foram comparadas com os valores da concentração da solução estoque de Cu(II), 0,983 mM, tamponada com ácido succínico (0,1 M) a pH 6,0 e por diferença pôde-se determinar as quantidades de íons metálicos no equilíbrio retidos pelos polímeros.

#### *Recuperação dos íons Co(II), Ni(II) e Cu(II) da ChitDTCK, quitosana e quitina*

Após o tratamento com as soluções dos íons de metais as amostras de quitina, quitosana e ChitDTCK foram filtradas à vácuo, lavadas com água destilada, secas e pesadas. Amostras de 200,0 mg de quitina, quitosana impregnadas com íons metálicos Co(II), e com Ni(II), e amostras de 100,0 mg de quitina, quitosana e ChitDTCK impregnadas com Cu(II) foram submetidas a tratamentos com soluções de 25,0 mL de KCl 3,2 M, tamponadas com ácido succínico 0,1 M a pH 6,0. As suspensões foram deixadas sob agitação magnética por 2 h a 30 °C. As suspensões foram filtradas à vácuo em funil Hirsch e os filtrados foram quantificados com respeito aos íons Co(II), Ni(II) e Cu(II), por espectrometria de absorção atômica(AA).

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### *Síntese da quitosana ditiocarbamato de potássio(ChitDTCK)*

Tentativas prévias da síntese de quitosana ditiocarbamato utilizando NH<sub>4</sub>OH como tampão a pH 10 mostrou espectros de RMN <sup>13</sup>C com sinais em 182,7 ppm (Tabela 1), além do sinal característico do grupo ditiocarbamato em 215,6 ppm.

Este sinal em 182,0 ppm pode indicar formação de tioureia, resultante do ataque nucleofílico ao grupo ditiocarbamato pelo NH<sub>3</sub>, presente no meio reacional em equilíbrio com a espécie NH<sub>4</sub>OH. O espectro de RMN da amostra ChitDTCNH<sub>4</sub> também mostrou sinais que poderiam corresponder ao grupo xantato (213,6 ppm).<sup>17</sup>

A formação de tiouréia foi eliminada substituindo o tampão NH<sub>4</sub>OH por tampão carbonato (0,1 M, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/KHCO<sub>3</sub>, pH 10). O espectro de RMN de <sup>13</sup>C neste caso mostrou a presença do grupo ditiocarbamato em 214,7 ppm, mas ausência do sinal da tiouréia a 182,7 ppm (Figura 1 e Tabela 1). Esta amostra foi codificada de ChitDTCK e apresentou um grau de substituição determinado por RMN de <sup>13</sup>C (Figura 4), GS<sub>RMN</sub> = 21,6. Todos os espectros RMN <sup>13</sup>C da quitosana ditiocarbamato

mostraram a presença de alguns grupos acetila (Tabela 1).<sup>9 22</sup>. Esta amostra também foi caracterizada por análise de enxofre, LECO, onde calculou-se o  $GS_{\%S} = 21,9$ .

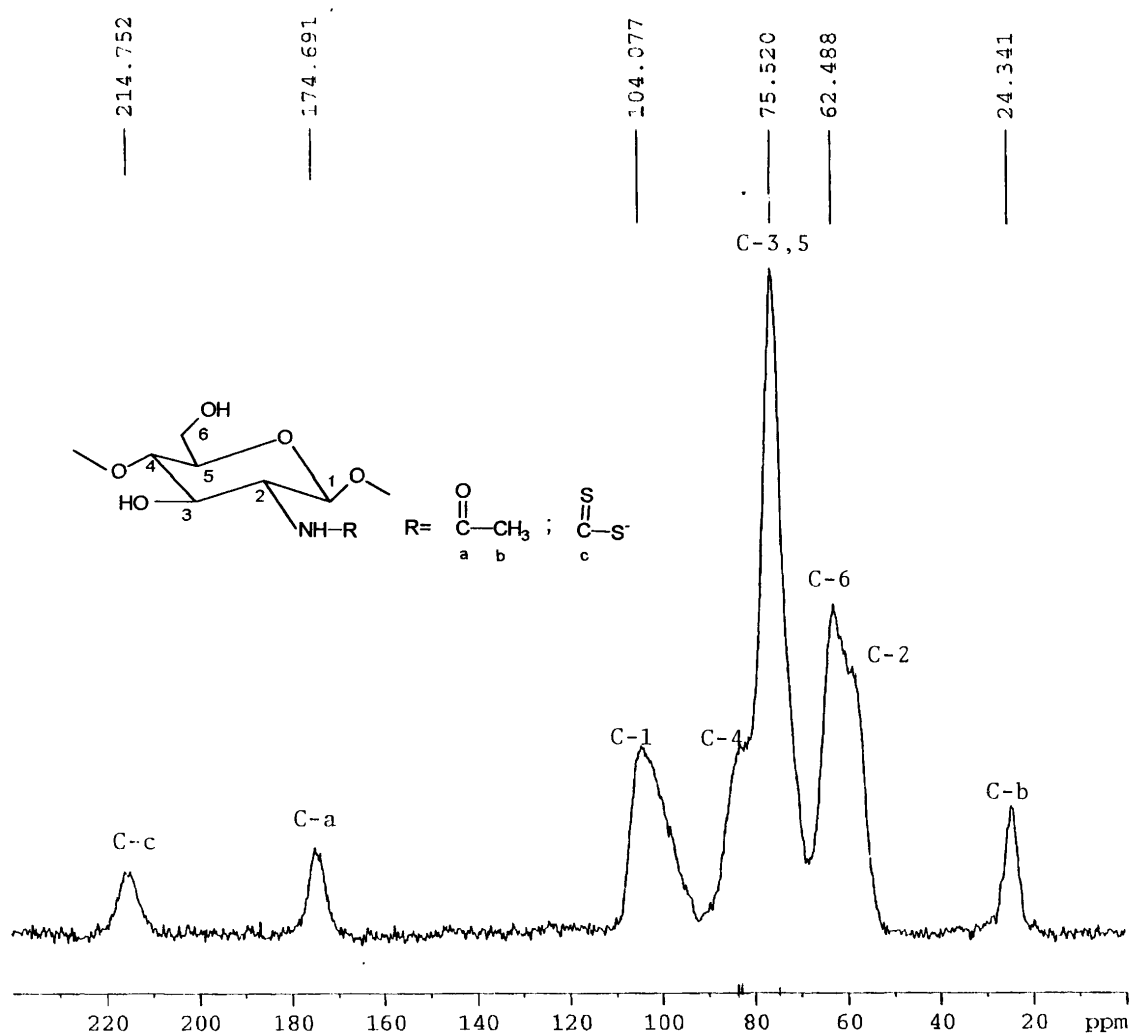
O tampão a pH 10 garante que todos os grupos amino da quitosana não estejam protonados ( $pK_a$  6,5),<sup>23</sup> e principalmente a neutralização do ácido ditiocarbâmico que se forma ao reagir com o dissulfeto de carbono.

A escolha do método de caracterização desses compostos é importante. Uma das técnicas mais utilizadas é a espectroscopia de infravermelho. Ela tem sido intensivamente utilizada para a caracterização destes polímeros,<sup>6</sup>, porém em algumas ocasiões esta técnica analítica pode não ser conveniente. Um exemplo disto está na preparação de quitosana ditiocarbamato utilizando  $NH_4OH$  como tampão. A caracterização deste produto foi realizada com acompanhamento da formação do produto por espectroscopia de infravermelho (IR), atribuindo a banda em  $1480\text{ cm}^{-1}$  para a ligação  $N-C=S$  do grupo ditiocarbamato.<sup>6</sup>

O grupo ditiocarbamato absorve na região de  $1481-1493$  e  $1449\text{ cm}^{-1}$ , mas as tiouréias substituídas absorvem em  $1493-1449\text{ cm}^{-1}$ .<sup>19</sup>

Baseando-se em nossos resultados pode-se supor que o composto sintetizado possivelmente estava contaminado com grupos tiouréia, e assim pode-se concluir que não é possível distinguir estes dois grupos, ditiocarbamato e tiouréia, por IR.

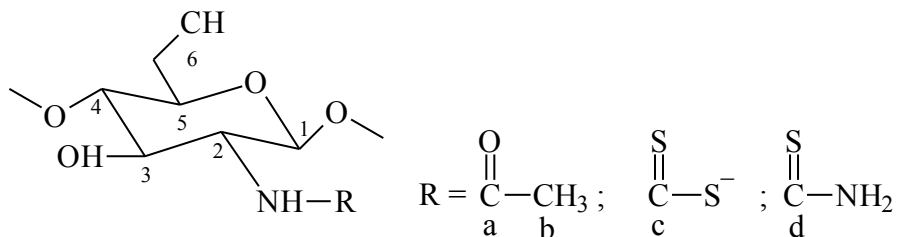
Figura 1-Espectro de RMN do  $^{13}\text{C}$ , em estado sólido, 75 MHz, CP/MAS, da amostra



ChitDTCK com  $\text{GS}_{\text{RMN}}=21,6$



Tabela 1- RMN de  $^{13}\text{C}$  CP/MAS no estado sólido de quitina, quitosana e quitosana ditiocarbamato de amônia e potássio.



	Quitina	Quitosana ppm	ChitDTCNH <sub>4</sub>	ChitDTCK
C – 1	104,3	105,2	103,3	104,1
C – 2	55,7	57,8	57,0	57,0
C – 3	75,5	76,1	74,9	75,5
C – 4	83,7	86,0	~81,0	~81,0
C – 5	74,0	75,8	74,9	75,5
C – 6	61,4	60,4	61,8	62,5
C – a	174,3	173,9	174,9	174,7
C – b	23,4	24,1	23,8	24,3
C – c	214,7 <sup>b</sup>		215,6 <sup>a</sup>	214,7 <sup>a</sup>
C – d	180-182 <sup>b</sup>		182,7 <sup>b</sup>	

a)Referência 9; b)Referência 10.

#### *Grau de substituição(GS) da quitina, quitosana e quitosana ditiocarbamato*

O grau de substituição da quitosana ditiocarbamato com respeito aos grupos acetilamino, amino e ditiocarbamato foram calculados dos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  <sup>22,23</sup>. As áreas dos sinais de C=S, C=O e CH<sub>3</sub> a 215, 175 e 24ppm, respectivamente, foram comparadas com a do C-(104 ppm) que não pode ser substituído ou, alternativamente, com a dos C-2, 3, 4, 5, 6 (41-91 ppm) dividida por 5 (Tabela 2 ). A partir da integração dos sinais registrados no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ , pode-se conhecer o grau de substituição(GS<sub>RMN</sub>) referente aos grupos acetilamino e ditiocarbamato, e por diferença do grupo amino (Figura 1). Os valores de GS(NHCOCH<sub>3</sub>)= 19.4 e GS(NHCS<sub>2</sub>)= 20,5 permitiram calcular o GS(NH<sub>2</sub>)= 60,1. O peso molecular médio de 100 unidades de glucosamina substituída na amostra de ChitDTCK, determinado por RMN de  $^{13}\text{C}$  foi calculado em  $1,98 \times 10^4$  g/mol. O resultado da análise de S em três amostras foi de  $7,09 \pm 0,7\%$  que corresponde a um GS<sub>S</sub>= 21,9.

Os valores de cada grupo também permitem o cálculo das molalidades (Tabela 3) desses grupos nas amostras de quitina, quitosana e ChitDTCK.

Tabela 2- Grau de substituição de grupos na quitosana ditiocarbamato.

Ordem	Grupo	Sinal, ppm.	Área	Calculado do GS	GS
1	C-1	104	4,69/C		
2	C=S	216	1,0	100(1/4,69)	21,32
3	C=O	175	1,17	100(1,17/4,69)	24,95
4	CH <sub>3</sub>	24	1,45	100(1,45/4,69)	30,92
5	C- 2,3,4,5,6	41-91	22,90/5C=4,58		
6	C=S			100(1/4,58)	21,83
7	C=O			100(1,17/4,58)	25,55
8	CH <sub>3</sub>			100(1,45/4,58)	31,66
9 Media(2+6)	C=S				21,58±0,26
10Media(3+7)	C=O				25,25±0,37
11Media(4+8)	CH <sub>3</sub>				28,27±3,02
12Media(10+11)	COCH <sub>3</sub>				50,15±0,60
13Media(9+12)	NH <sub>2</sub>				

Para a ChitDTCK os valores próximos de GS determinado por RMN de <sup>13</sup>C em estado sólido GS<sub>RMN</sub>= 21,6 e pelo conteúdo de enxofre GS<sub>%s</sub>= 21,9, mostram que ambos métodos são válidos.

Tabela 3-Grau de substituição e molalidades dos grupos derivados da quitina e seus derivados.<sup>a</sup>

Substituinte	MM, anel.	Quitina		Quitosana		ChitDTCK	
		GS	$m^{0}_{NHAc}$	GS	$m^{0}_{NH_2}$	GS	$m^{0}_{NHCS_2K}$
NHCOCH <sub>3</sub>	203,09	100	4,92	28,3±3,0	1,63	28,3±3,0	1,43
NH <sub>2</sub>	161,07			71,8±0,9	4,15	50,2±0,6	2,54
NHCS <sub>2</sub> K	275,32					21,6±0,3	1,09
						(21,9)	(1,11)

a) Calculados do espectro RMN. Valores entre parênteses calculados pelos 7,09% S contidos na amostra.

A seguir mostram-se os cálculos das molalidades dos grupos acetilamino, amino e ditiocarbamato nas matrizes poliméricas. Os valores das molalidades e graus de substituição estão organizados na Tabela 3.

*Quitina.*

$GS_{NHAc} = 100$ ; 1 mol por anel;

Massa Molar (anel) = 203,09 g/mol; moles/kg =  $m_{NHAc}^o = 1000/203,09 = 4,92$

*Quitosana*

Anel de  $NH_2$ , MM 161, 07 x 71,73 = 11553,55.

Anel  $NHAc$ , MM 203,09 x 28,27 = 5741,35.

100 aneis, MM 17294,91

moles/kg ( $m_R^o$ )

$m_{NH_2}^o = 1000 \times 71,73/17294,91 = 4,15$

$m_{NHAc}^o = 1000 \times 28,27/17294,91 = 1,63$

*ChitDTCK.*

Anel de  $NH_2$ , MM 161,07 x 50,15 = 8077,66.

Anel de  $NHAc$ , MM 203,09 x 28,27 = 5741,35.

Anel de  $NHCS_2K$ , MM 275,32 x 21,58 = 5941,41.

100 anéis, MM 19760,42

$m_{NH_2}^o = 1000 \times 50,15/19760,42 = 2,54$

$m_{NHAc}^o = 1000 \times 28,27/19760,42 = 1,43$

$m_{NHCS_2K}^o = 1000 \times 21,58/19760,42 = 1,09$

### *Retenção de íons metálicos*

Estudos preliminares mostraram que soluções não tamponadas de alguns sais metálicos eram ácidas:  $\text{CuCl}_2$  (pH = 4,5),  $\text{CrCl}_3$  (pH = 3,2),  $\text{CdCl}_2$  (pH = 5,2),  $\text{FeCl}_3$  (pH = 2,50) e os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  no estado sólido das amostras de ChitDTCK impregnadas nestas condições com os íons metálicos não apresentaram sinais de grupo ditiocarbamato a 215 ppm, evidenciando sua decomposição. Amostras de quitosana que também foram testadas nestas soluções de sais metálicos sofreram gelificação quando o pH era inferior a 4,5. Por tanto, foi necessário elevar o pH das soluções de íons metálicos para pH 6,0 e mantê-lo constante utilizando succinato como tampão. Este aumento no valor pH com succinato resolveu alguns problemas, no entanto gerou outros. Por exemplo, nestas condições o íon succinato complexa com  $\text{Co(II)}$ ,  $\text{Cu(II)}$  e  $\text{Ni(II)}$  com constantes de estabilidade  $K = 52,5$ ,  $500,1$  e  $50,1$  respectivamente).<sup>24</sup>

Outro problema é a precipitação de hidróxidos dos íons metálicos.<sup>25</sup> Para evitar a formação de hidróxido, as concentrações de  $\text{Co(II)}$ ,  $\text{Cu(II)}$  e  $\text{Ni(II)}$  foram calculadas considerando os produtos de solubilidade, do  $\text{Co(OH)}_2$ ,  $\text{Cu(OH)}_2$  e  $\text{Ni(OH)}_2$ , a pH 6,0. Assim, o objetivo do aumento de pH foi alcançado, evitando-se a decomposição do ditiocarbamato.<sup>8</sup>

Por exemplo, um alquilDTC análogo a ChitDTCK, o 2-hidroxietilditiocarbamato apresenta a pH 4,0 uma constante de velocidade de catálise ácida específica  $2,95 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ , e um tempo de meia vida de 39 min a  $25^\circ\text{C}$ .<sup>8</sup>

Outro objetivo da mudança do pH foi aumentar os grupos amino livre na quitosana e ChitDTCK, diminuindo a concentração do ácido conjugado porque o  $\text{pK}_a$  é igual a 6,5. A forma de amina livre é a espécie eficiente para formar quelatos com íons metálicos.<sup>26</sup>

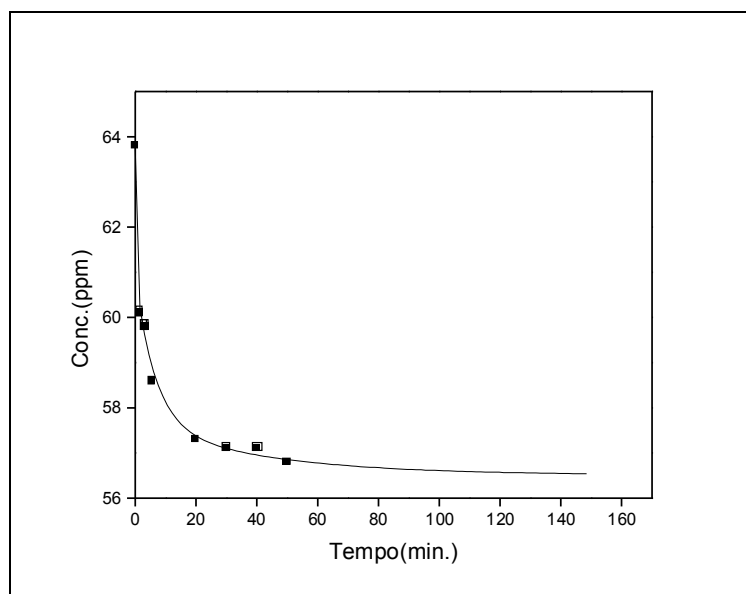






Figura 2- Variação da concentração em função do tempo na retenção de íons Cu(II) por 200 mg de quitina em 100 ml de 1,004 mM CuSO<sub>4</sub>, tamponada com 0,1.M succinato a pH 6,0, a 30 °C.

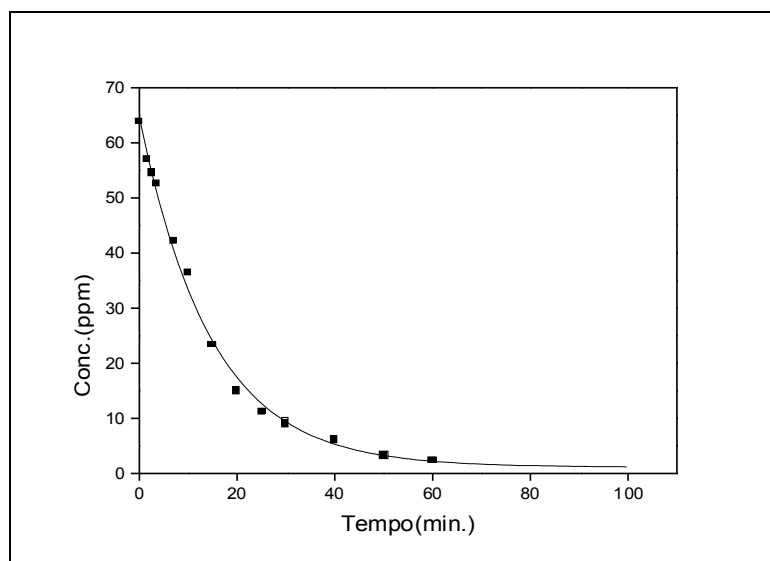


Figura 3- Variação da concentração em função do tempo na retenção de íons Cu(II) por 200,0 mg de quitosana em 100,0 mL de 1,004 mM CuSO<sub>4</sub>, tamponada com 0,1.M succinato a pH 6,0, a 30 °C.

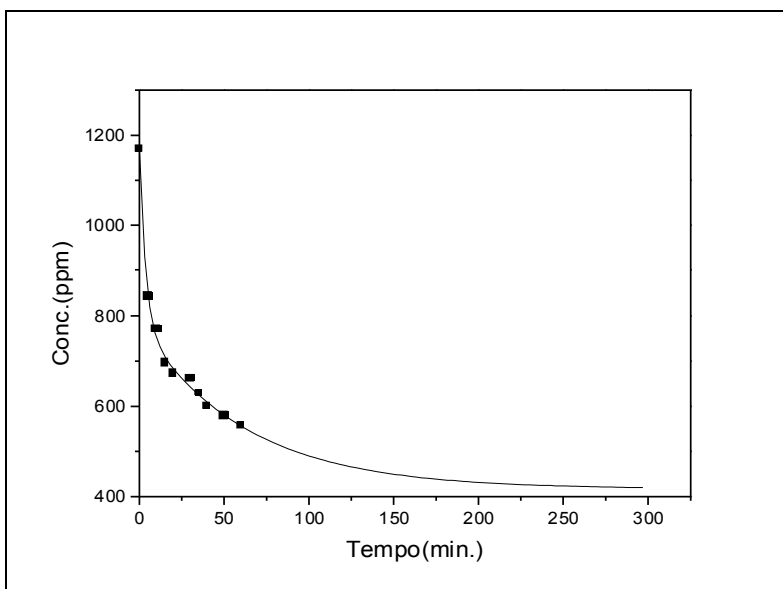


Figura 4- Variação da concentração em função do tempo na retenção de íons Co(II) por 500,0 mg de quitosana em 50,0 mL de 19,87 mM  $\text{Co}(\text{NO})_3$ , tamponado com 0,1 M succinato a pH 6,0, a 30 °C.

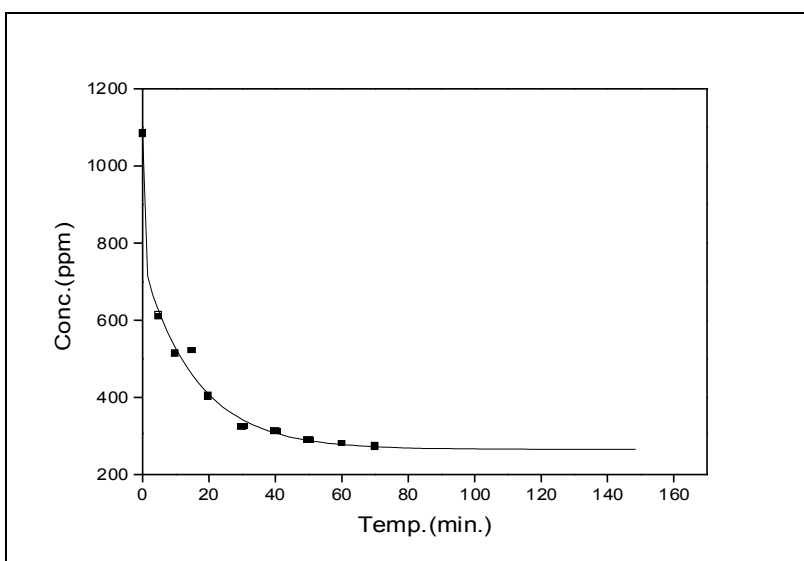
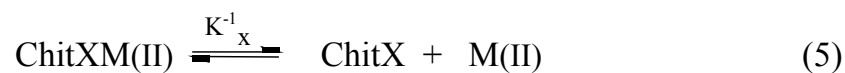


Figura 5- Variação da concentração em função do tempo na retenção de íons Ni(II) por quitosana. 500,0 mg de quitosana em 50,0 ml de 18,11 mM  $\text{Ni}(\text{NO})_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , tamponado com succinato a pH 6,0, a 30 °C.

Através das curvas de decaimento da concentração dos íons metálicos versus tempo de contato com o polímeros, as concentrações e os tempos no equilíbrio foram determinados. A figura 2 ilustra o decaimento da concentração dos íons Cu(II) pela quitina. Para o sistema Cu(II)/ quitina os primeiros minutos apresentaram um rápido decaimento da concentração. A partir de 50 minutos a variação da concentração se manteve aproximadamente constante e atingiu a condição de equilíbrio em aproximadamente 75 minutos. As figuras 3 e 4 mostram o decaimento da concentração dos íons Cu(II) e Co(II) pela quitosana. Para o sistema Cu(II) / quitosana a condição de equilíbrio foi atingido aproximadamente em 90 minutos. O sistema Co(II)/ quitosana atingiu a condição de equilíbrio aproximadamente em 200 minutos. A Figura 5 mostra o decaimento da concentração dos íons Ni(II) pela quitosana. Para este sistema a condição de equilíbrio foi atingida aproximadamente em 100 minutos. Para ChitDTCK o tempo foi determinado anteriormente, também das curvas da medida da concentração dos íons metálicos versus tempo de contato com os polímeros levando 50 min<sup>5</sup> para atingir o equilíbrio de retenção.

Considerando o tempo utilizado nas experiências as quantidades de íons metálicos retidos pelos polímeros, foram ao redor de 98% do equilíbrio e 90% no caso do Co(II).

A regeneração dos polímeros impregnados com os íons metálicos foi realizada na presença de uma solução de KCl 3,2 M, tamponada com succinato a pH 6,0 segundo o equilíbrio 5



onde X = NH<sub>2</sub>, NHCOCH<sub>3</sub> e NHCS<sub>2</sub><sup>-</sup>, M(II) = Co(II), Ni(II) e Cu(II)

Tabela 4- Retenção e recuperação de íons metálicos por derivados da quitosana a 30 °C<sup>a</sup>

	Sal		Retenção						Re		
			$(m_{M(II)})_0^{sln}$	$(n_{M(II)})_0^{sln}$	$(m_{M(II)})^{sln}$	$(n_{M(II)})^{sln}$	$(n_{M(II)})^{sld}$	$(m_{M(II)})^{sld}$	$10^5$ $(m_{M(II)})^{sln}$		
B	CuSO <sub>4</sub>	Quitina	$9,80 \times 10^{-4}$	$4,9 \times 10^{-5}$	$68,8 \times 10^{-5}$	$3,44 \times 10^{-5}$	$1,46 \times 10^{-5}$	$1,46 \times 10^{-1}$	e	15,3	
B	CuSO <sub>4</sub>	Quitosana	$9,80 \times 10^{-4}$	$4,9 \times 10^{-5}$	$5,70 \times 10^{-5}$	$2,8 \times 10^{-6}$	$4,63 \times 10^{-5}$	$4,63 \times 10^{-1}$	e	1,26	
c	CuSO <sub>4</sub>	ChitDTCK	$9,56 \times 10^{-4}$	$9,56 \times 10^{-6}$	$8,81 \times 10^{-6}$	$8,81 \times 10^{-8}$	$9,47 \times 10^{-6}$	$9,47 \times 10^{-2}$	e	2,65	
D	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Quitina	$1,98 \times 10^{-2}$	$9,90 \times 10^{-4}$	$19,16 \times 10^{-3}$	$9,58 \times 10^{-4}$	$3,20 \times 10^{-5}$	$6,4 \times 10^{-2}$	f	23,49	
D	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Quitosana	$1,98 \times 10^{-2}$	$9,90 \times 10^{-4}$	$7,13 \times 10^{-3}$	$3,56 \times 10^{-4}$	$6,34 \times 10^{-4}$	1,27	f	28,10	
D	Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Quitina	$1,81 \times 10^{-2}$	$9,05 \times 10^{-4}$	$17,51 \times 10^{-3}$	$8,75 \times 10^{-4}$	$3,0 \times 10^{-5}$	$6,0 \times 10^{-2}$	f	15,3	
d	Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Quitosana	$1,81 \times 10^{-2}$	$9,05 \times 10^{-4}$	$4,48 \times 10^{-3}$	$2,24 \times 10^{-4}$	$6,81 \times 10^{-4}$	1,36	f	23,8	

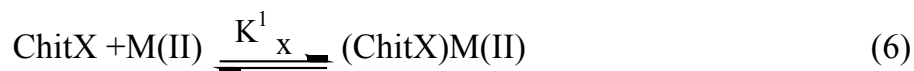
a) A pH 6,0 (0,1 M succinato), considerando  $pK_a = 6,5$  para a quitosana; b) 50 mL da solução inicial; 100 mg de sólido; c) 10 mL da solução inicial; 100 mg de sólido; d) 50 mL da solução inicial, 500 mg de sólido; e) 25 mL de KCl 3,2 M; 100 mg de sólido; f) 25 mL de KCl 3,2 M, 200 mg de sólido.

A partir da quitina e quitosana foram recuperados os íons Co(II), Cu(II) e Ni(II). Os valores das quantidades de íons recuperadas estão na Tabela 4. Para ChitDTCK recuperou-se apenas o Cu(II).

A tabela 4 apresenta os valores das quantidades de íons metais no equilíbrio e em solução, referentes aos experimentos de retenção e recuperação. A principal função desta tabela é mostrar os valores das molalidades utilizadas para a determinação das constantes de estabilidade e instabilidade considerando o balanço de massa.

#### *Constante de estabilidade*

Determinaram-se as constantes de estabilidade dos complexos, formados pelos ligantes (acetilamino, amino e ditiocarbamato) e centros positivos (Cu(II), Co(II) e Ni(II)) segundo o equilíbrio 6,



onde X representa o ligante unido à matriz polimérica, M(II) o íon metálico e ChitXM(II) a forma complexada. A constante de estabilidade  $K_x$  é expressa pela equação 7

$$K_X = \frac{(m_M)^{sld}}{[m_X^o - (m_M)^{sld}](m_M)^{sln}} \quad (7)$$

onde  $m_x^o$  é a molalidade inicial do grupo no sólido,  $(m_M)^{sld}$  e  $(m_M)^{sln}$  são as molalidades em equilíbrio do íon M(II) no sólido e na solução respectivamente calculadas do balanço de massa do número de moles transferidos da solução para o sólido. A constante de equilíbrio  $K_x$  é equivalente à dada pela equação 2 quando  $m = n = 1$ , ou seja, quando o ligante e o íon estão na razão 1:1.

**Quitina.** Há somente grupos ligantes acetilamino na quitina e por tanto  $K_X = K_{NHAc}$  pode ser calculado diretamente das molalidades obtidas de íons M(II) no sólido e na solução em equilíbrio.

**Quitosana.** No cálculo da  $K_X$  para a quitosana deve-se considerar que além de grupos aminos, há também grupos acetilamino presentes no sólido, conseqüentemente, há  $x$  átomos-grama do M(II) quelados com os grupos NHAc com uma molalidade  $(m_M)_x^{sld}$  e  $y$  átomos-gramas com os grupos aminos livres (não protonados) com uma molalidade  $(m_M)_y^{sld}$ . Os valores de  $(m_M)_x^{sld}$  podem ser calculados da equação 7 segundo a equação 8

$$(m_M)_x^{sld} = \frac{m_x^o \cdot m_M^{sln}}{m_M^{sln} + \frac{1}{K_{NHAc}}} \quad (8)$$

onde  $(m_M)_x^{sld}$  é a molalidade dos grupos acetilamino na quitosana ligados a íons M(II),  $m_x^o$  é a molalidade dos grupos acetilamino na quitosana antes da complexação,  $m_M^{sln}$  é a molalidade dos íons na solução e  $K_{NHAc}$  é a constante de estabilidade do grupo acetilamino.

A molalidade dos grupos amino complexados na quitosana pode ser calculada considerando o balanço de massa dado pela equação 9

$$(m_M)_o^{sln} - m_M^{sln} = (m_M)_x^{sld} + (m_M)_y^{sld} \quad (9)$$

onde  $(m_M)_o^{sln}$  é a molalidade inicial da solução do íon. A diferença da concentração inicial e em equilíbrio da solução é igual a molalidade transferida para o sólido. Uma vez calculada  $(m_M)_y^{sld}$  pode-se calcular  $K_{NH2}$  da equação 8, considerando a molalidade do grupo amino livre na quitosana.

**Quitosana ditiocarbamato.** Neste caso o íon metálico pode complexar com três diferentes grupos: acetilamino, amino e ditiocarbamato. Desta forma, torna-se necessária a correção para a complexação do íon metálico com os grupos NHAc e NH<sub>2</sub> presentes na amostra de quitosana ditiocarbamato. Essa correção é realizada obtendo os valores de  $(m_M)_x^{sld}$  e  $(m_M)_y^{sld}$  das constantes  $K_{NHAc}$  e  $K_{NH2}$ , e calculando valor da molalidade  $(m_M)_z^{sld}$  do grupo ditiocarbamato complexado na ChitDTC pela equação 10

$$(m_M)_o^{sln} - m_M^{sln} = (m_M)_x^{sld} + (m_M)_y^{sld} + (m_M)_z^{sld} \quad (10)$$

A constante de estabilidade referente ao grupo ditiocarbamato,  $K_{DTC}$ , foi obtida similarmente pela equação 7.

No presente trabalho foi também medida a quantidade de íons metálicos recuperada dos polímeros impregnados com eles. Este processo pode ser representado pelo equilíbrio 5 e a equação 11 representa a constante de instabilidade

$$K_x^{-1} = \frac{[m_X^o - (m_M)^{sld}](m_M)^{sln}}{(m_M)^{sld}} \quad (11)$$

onde  $m_X^o$  é a molalidade do grupo X no polímero,  $(m_M)^{sld}$  e  $(m_M)^{sln}$  são as molalidades do íon M(II) no sólido e na solução em equilíbrio respectivamente, calculadas do balanço de massa da transferência de moles do sólido obtido no processo de retenção para a solução.

O método de cálculo de  $K_x^{-1} = K_{NHAc}^{-1}$  para a quitina, quitosana ( $K_{NH_2}^{-1}$ ) e quitosana ditiocarbamato ( $K_{DTC}^{-1}$ ) é totalmente similar ao usado para as constantes de retenção.

Tabela 5- Constantes de estabilidade e instabilidade de íons metálicos com alguns grupos X contidos em derivados da quitosana ( $X = \text{NH}_2$ ) 30 °C.

Íon	X	Retenção <sup>a</sup> $K_x$	Recuperação <sup>b</sup> $K_x^{-1}$
$\text{Cu}^{2+}$	NHAc	44,5	$5,0 \times 10^{-3}$
$\text{Cu}^{2+}$	$\text{NH}_2$	$9,4 \times 10^3$	$1,9 \times 10^{-5}$
$\text{Cu}^{2+}$	DTCK	$3,5 \times 10^3$	
$\text{Co}^{2+}$	NHAc	0,69	$1,8 \times 10^{-2}$
$\text{Co}^{2+}$	$\text{NH}_2$	$1,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^{-5}$
$\text{Ni}^{2+}$	NHAc	0,70	$1,2 \times 10^{-2}$
$\text{Ni}^{2+}$	$\text{NH}_2$	$1,1 \times 10^4$	$4,1 \times 10^{-6}$

A pH 6,0 (0,1 M succinato); considerando  $\text{pK}_a = 6,3$  para a quitosana;

b) KCl 3,2 M.

Os valores da tabela 5 indicam que as constantes de estabilidade dos três metais testados apresentam a ordem crescente NHAc < DTC <  $\text{NH}_2$ . Com os testes de recuperação da quitina e quitosana, foi possível determinar as constantes de instabilidade para os grupos acetilamino e amino, apresentando a ordem  $\text{NH}_2 < \text{NHAc}$ .

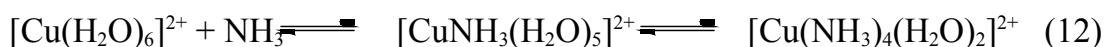
Comparando as constantes de estabilidade dos grupos NHAc e  $\text{NH}_2$ , para cada íon metálico, observa-se a ordem crescente,  $\text{Ni(II)} < \text{Co(II)} < \text{Cu(II)}$  para o grupo acetilamino. Para o grupo amino as constantes para Co(II) e Cu(II), seguiram a mesma ordem das constantes de estabilidade dos grupos acetilamino. Esses resultados estão em concordância com os valores obtidos por Tomoshige para a seletividade de alguns metais como Co(II), Cu(II) e Ni(II) pela quitosana.<sup>27</sup>

Apesar do Cu(II) ser um dos mais abundante elemento de transição em sistemas biológicos, o comportamento da forma aqua dos íons Cu(II) são pouco compreendidas.<sup>28</sup>



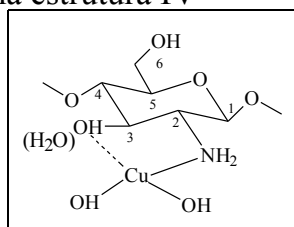
Resultados teóricos e experimentais sugerem que o complexo solvatado sofre transformações entre pirâmide de base quadrada e pirâmide trigonal, configurações com um número de coordenação 5. A primeira camada de solvatação forma um complexo octaédrico<sup>29</sup>  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  que troca água a alta velocidade.

Adição de ligantes como  $\text{NH}_3$  deslocam sucessivas moléculas de água<sup>30</sup> (Equação 12)



Com relação às características estruturais dos polímeros e de seus sítios reacionais, um substituinte retirador de elétrons como o grupo acetila, diminui a basicidade do grupo amino e conseqüentemente as constantes de estabilidade dos complexos formados pelos grupos acetilamino e os íons metálicos apresentam baixos valores, quando comparadas com as constantes de estabilidade dos grupos amino. Para a quitosana, a dependência do complexo M(II)-quitosana do pH sugere que a pH 6,0 a composição foi 1:1 metal-ligante.<sup>31</sup>

Em relação ao Cu(II), o modelo da estrutura IV é consistente com o obtido em estado sólido<sup>23</sup> e com medidas potenciométricas e de dicroísmo circular. Apenas um complexo neutro seria formado com um Cu por  $\text{NH}_2$ ,  $[\text{CuNH}_2(\text{OH})_2]^0$ , onde o quarto lugar poderia estar ocupado por uma molécula de água ou uma hidroxila vicinal sobre o C-3 mostrado na estrutura IV



**IV**

A reação de Cu(II), Co(II) e Ni(II) com succinato, estão representadas pela equação 13, onde M representa os íons metálicos.



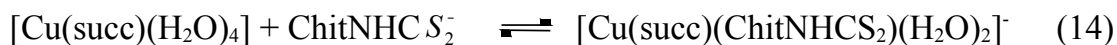
A reação com Cu(II) produz um complexo neutro  $[Cu(succ)(H_2O)_4]^0$  ( $-\Delta G^\circ = 3,6-3,7 \text{ kcal mol}^{-1}$ )<sup>24, 32</sup>, que tem sido proposta ser uma pirâmide de base quadrada.<sup>32</sup>

A pH 6,0 (0,1M succinato) a maioria das espécies Cu(II), Co(II) e Ni(II) em solução devem estar na forma complexada M(II)-succinato, que evita a formação de complexos maiores do que 1:1 entre o metal e o grupo amino.

As constantes de estabilidade  $K_{NH_2}$  para os complexos 1:1 M(II):glucosamina a 25°C são  $1,32 \times 10^5$  para Cu(II)-amino,  $1,99 \times 10^2$  para Co(II)-amino e  $K = 8,9 \times 10^2$  para Ni(II)-amino,<sup>24</sup> ressaltando que esses complexos encontram-se na ausência de succinato. Para o Cu(II) a constante é ao redor de cem vezes maior que o valor calculado neste trabalho na presença de succinato, no entanto para o Co(II) o valor é dez vezes menor.

A razão 1:1 também pode ser esperada para o grupo bidentado ditioicarbamato. Para o íon aqua Cu(II) e dimetilditioicarbamato foi demonstrado por espectrofotometria a existência de complexos 1:1 e 1:2<sup>33</sup>

Há pouca interação entre o grupo ditioicarbamato e o íon aqua Cu(II) nos complexos.<sup>34,35</sup> Por tanto a interação do grupo DTC com o complexo Cu(II)-succinato não carregado deve resultar num aumento de  $\Delta G^\circ$  da reação 14



devido ao decréscimo da interação eletrostática comparada com o íon aqua carregado, promovendo um complexo 1:1. Também pode explicar o fato da

constante de estabilidade para ditiocarbamato ser menor que a constante do grupo amino.

## 6. CONCLUSÃO

Quitosana ditiocarbamato de potássio (ChitDTCK) foi sintetizado e o grau de substituição GS (números de substituintes por 100 unidades de 2-amino-2-deoxiglucopirranose) e molalidades dos grupos foram calculados para acetilamino, amino e ditiocarbamato substituídos na quitina, quitosana e quitosana ditiocarbamato.

Para Cu(II) a ordem dos valores das constantes de estabilidade  $K_X$  foram acetilamino < ditiocarbamato < amino, para as constantes de instabilidade  $K_X^{-1}$  acetilamino > amino. As constantes de estabilidade  $K_X$  para os grupos seguiram a ordem: (acetilamino) Cu > Co  $\cong$  Ni; (amino) Ni > Cu > Co. As constantes de instabilidade  $K_X^{-1}$  seguiram a ordem: (acetilamino) Cu < Co  $\cong$  Ni; (amino) Ni < Cu < Co. As reações com Cu(II), Co(II) e Ni(II) com cada grupo foi assumida a razão 1:1 metal-ligante.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BALEY, S., ONLIN, T.J., BRICKA, M., ADRIAN, D., A review of potentially low-cost sorbent for heavy metals. **Water Res.**, v 33, p.2469-2479, 1999.
2. KUMAR, M.N.V.R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive & Polifuncional Polymers**, v.46, p.1-27, 2000.
3. MADHAVAN, P. (Ed.), Chitin, Chitosan and their novel applications. **Science Lecture Series**, CIFT, Kochi, 1992. In: KUMAR, M.N.V.R., **Reactive & Polifuncional Polymers**, v.46, p.1-27, 2000.
4. JUANG, R., TSENG R., WU F., LEE, S., Adsorption behavior of reactive from aqueous solutions on chitosan. **J. Chem. Tech. Biotechnol.**, v.70, p.391-399, 1997.
5. HUMERES, E., DEBACHER, N.A., SOUZA, E.P., ARMILIATO, L., Síntese de quitosana ditiocarbamato e adsorção de íons metálicos. **Livro de resumos do VI encontro de química da SBQ-SUL**, FQ40, 1998.
6. MUZZARELLI, R.A.A., TANFANI, F., MARIOTTI, S., and EMANUELLI, M., Preparation and Characteristic proprieties of dithiocarbamate chitosan, a chelanting polymer. **Carbohydrate Research**, v.104, p.235-243, 1982.
- 7- PENICHE-COVAS, C., ALWAREZ, L.W., ARGUELLES-MONAL, W., The adsorption of mercuric ions by chitosan. **J. Appl. Polym.Sci.**, v.46, p.1147, 1987, In: KUMAR, M.N.V.R., **Reactive & Polifuncional Polymers**, v.46, p.1-27, 2000.
8. HUMERES, E., DEBACHER, N. A., SIERRA, M.M. de S., FRANCO, J. D., SCHUTZ, A. Mechanisms and acid decomposition of dithiocarbamates. 1. Alkyl dithiocarbamates. **J. Org. Chem.**, v.63, p.1598-1603, 1998.
9. ZHANG, M., HISAMORI, H., YAMADA, T., HIRANO, S. <sup>13</sup>C CP/MAS NMR spectral analysis of 6-O-tosyl, 6-deoxy-6-iodo, and 6-Deoxy Derivates of N-acetylchitosan in a solid state. **Biosci. Biotech. Biochem.** v.58, p.1906-1908, 1994.

10. ARES, J.J., FOWBLE, J.W., Urchek, T.G., Miller, D.D. **Biochem. Biophys. Res. Comm.**, v.9, p.1064-1071, 1987.
11. THORN, G.D., LUDWIG, R.A. The Dithiocarbamates and Related Compounds. Amsterdam: Elsevier, p.100, 1962.
12. COBERTT, J.R. The biochemical mode of action of pesticides. London: Academic Press, 1974.
13. DUTTA, D. P., JAIN, V. K., KNOEDLER A., KAIN, W. Dithiocarbamates of gallium(III) and indium(III), syntheses, spectroscopy, and structures. **Polyhedron v.21, p.239, 2002.**
14. DELÉPINE, M. Sulfur and nitrogen compounds derived from carbon disulfide. Metallic thiosulfocarbamates. **Bull. Soc. Chim. France**, v 4, p.643, 1908.
15. KULBRG, L.M., and KOVALEVA, A. G.. Reaction of dithiocarbamates with molybdate. **Doklady Akad. Nauk. S. S. S.R.**, v.98, 1954.
16. VAIN, R.L. , CARTER, G.A. Nomenclature and definitions. In: March, R.W., **Sistematc Fungicides**. London: Longman Group LTDA, v.1, 1972.
17. ESPINDOLA, J.G.P., FREITAS, J.M.P. OLIVEIRA, S.F., AIROLDI, C., **Colloids Surf. A**, v.87, 1994.
18. VENKATESAN, K.A., SRINIVASAN, T.G., VASUDEVA RAO, P.R. Cobalt-extraction studies on dithiocarbamate grafted on silica gel surface. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, v. 180, p.277-284, 2001.
19. **Aldrich Library of Infrared Spectra**, 3<sup>rd</sup> ed.. Milwaukee, Wisconsin, 1981.
20. CONNORS, K. A. Binding Constants: *The Measurement of Molecular Complex Stability*, 1<sup>a</sup> ed, John Wiley & Sons, cap 2, 1987.
21. HUMERES, E., SEQUINEL, L.F., NUNES, M., OLIVEIRA, C.M.S.; BARRIE. J.P. Water- catalyzed hydrolysis of p-Nitrobenzyl cellulose xanthate. **J. Phys. Org. Chem.**, v.7, p.287-295, 1994.
22. VARUM, K.M., HOLME, H.K., IZUME, M., STOKKE, B.T.; SMIDSRØD, O. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 129, p.5-15, 1997.

23. DOMARD, A. pH and c.d. measurements on a fully deacetylated chitosan: application to Cu(II)-polymer interactions. **Int. J. Biol.Macromol.**, v.9, p.98, 1987.
24. MARTEL, A.E., SMITH, R.M., Nist Critical Selected Estability Constants of Metal Complexes, **Nist Standard Reference Database 46 version 6.0**, 2001.
25. STUMM, W., MORGAN, J.J., **Aquatic Chemistry**, New York: Wiley, 1981.
26. INOUE, K., BABA, Y., YOSHIZAKI, K., NOGUCHI, H., YOSHIZUKA, M. Seletivity series in the adsorption of metal ions on a resin prepared by crosslinking copper(II)- complexed chitosan. **Chem. Lett.**, p.1281-1284, 1988.
27. TOMOSHIGE, S., HIRAI, M and SHIBATA, FUSEN, T 29, 210 (1982) in: INOUE, K., BABA, Y., YOSHIZAKI, K., NOGUCHI, H., YOSHIZUKA, M. Selectivity series in the adsorption of metal ions on a resin prepared by crosslinking copper(II)- complexed chitosan. **Chem. Lett.**, p.1281-1284, 1988.
28. PASQUARELLO, A. ,PETRI I., SALMON, P.S., PARISEL, O., CAR, R., TOTH, E, POWEL, D.H., FISCER, H.E., HELM, L, MERBACH, A.E. **Science**, v.291: p.856-859.,2001.
29. SANO, M., MARVO, T, MASUDA, Y, YAMATERA, H., **Inorg.Chem**, v.23, p.4466-4469, 1984.
30. COTTON F. A., WILKINSON G, **Advanced inorganic**, Interscience: New York, Cap 21, 1980.
31. OGAWA, K., OKA, K, MIYANISHI, T., HIRANO, S., In Chitin, Chitosan, and Related Enzimas, ed. Zikakis J.P. Academic: Orlando, FL, p.327-345, 1984.
32. ARENA G, CALI R, RIZZARELLI E, SAMMARTANO S. **J. Chem. Soc.Dalton**, p.1090-1094, 1978.
33. GOKSØYR. C. **J. Phisiol. Plantarum**. v.8, p. 719-724, 1955.
34. FABRIETTI A.C., FORGHIERI F, GIUSTI A., PRETI C., TOSI G. **Inorg. Chim. Acta**. v. 86: p.127-131, 1984.
35. VANCE C.T., BEREMAM R.D. **Inorg. Chim. Acta.**, 149: 85-87, 1988.

